

Title	膀胱癌診断におけるスクリーニング法の検討 : Nuclear matrix protein-22, Bladder tumor antigenならびに尿細胞診の比較
Author(s)	福井, 義尚; 三馬, 省二; 藤本, 健; 明山, 達哉; 山口, 旭; 平山, 暁秀
Citation	泌尿器科紀要 (2001), 47(5): 311-314
Issue Date	2001-05
URL	http://hdl.handle.net/2433/114528
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

膀胱癌診断におけるスクリーニング法の検討： Nuclear matrix protein-22, Bladder tumor antigen ならびに尿細胞診の比較

奈良県立奈良病院泌尿器科（部長：三馬省二）

福井 義尚，三馬 省二，藤本 健

明山 達哉，山口 旭，平山 暁秀

SCREENING METHODS IN THE DETECTION OF BLADDER CANCER : COMPARISON OF NUCLEAR MATRIX PROTEIN-22, BLADDER TUMOR ANTIGEN AND CYTOLOGICAL EXAMINATIONS

Yoshihisa FUKUI, Shoji SAMMA, Ken FUJIMOTO,

Tatsuya AKIYAMA, Akira YAMAGUCHI and Akihide HIRAYAMA

From the Department of Urology, Nara Prefectural Nara Hospital

We evaluated the utility of urinary parameters (Nuclear Matrix Protein-22 : NMP-22, Bladder Tumor Antigen : BTA, and cytological examinations) for the diagnosis or post-therapeutic monitoring of bladder cancer. Thirty one tumor-bearing cases including 19 fresh cases and 40 tumor-free cases, were subjects of this study. Using identical voided urine samples, NMP-22, BTA and urinary cytology were examined. The mean values of NMP-22 (cut-off value is 12 U/ml) was 100.5 ± 26.5 U/ml in the tumor-bearing group and 21.9 ± 7.8 U/ml in the tumor-free group ($p < 0.05$) : Sensitivity was 74.2%, and specificity was 67.5%. Sensitivity of BTA was 58.1%, and specificity was 97.5%. Only five cases were judged positive by urinary cytology : 16.1% in sensitivity and 100% in specificity. Thus, NMP-22 and BTA were more sensitive than urinary cytology. In conclusion, the new urinary parameters, NMP-22 and BTA, would be less invasive and useful as tumor markers of bladder cancer. NMP-22 seems suitable for screening before the diagnosis and BTA for the post-therapeutic follow-up study.

(Acta Urol. Jpn. 47 : 311-314, 2001)

Key words : Bladder cancer, Tumor marker, NMP-22, BTA, Urinary cytology

緒 言

膀胱癌診断における gold standard は膀胱鏡検査による肉眼的診断であるが、画像診断以外の補助診断法としては細胞診しかないのが現状である。しかし、尿細胞診の正診率は約30%^{1,2)}と低く、癌診断や経過観察における非侵襲的な高感度の腫瘍マーカーの開発が長い間待たれていた。

今回われわれは、膀胱癌の尿中腫瘍マーカーとして新しく臨床応用された Nuclear matrix protein-22 (NMP-22)^{3,4)}、Bladder tumor antigen (BTA)^{5,6)}を測定し、さらに、cyto-rich 法^{7,8)}および従来法による細胞診を行い、それらの膀胱癌診断における有用性を比較検討した。

対 象 と 方 法

対象は、1999年4月より11月までの8カ月間に奈良県立奈良病院泌尿器科において治療後経過観察中また

は初回診断した膀胱癌症例71例（経過観察中52例，新鮮例19例）で，このうち腫瘍ありは31例で，腫瘍なしと判断されたのは40例であった。男性は53例，女性は18例で，年齢は36歳から89歳（平均68.7歳）であった。活動性尿路感染症が認められる症例や尿路にカテーテルを留置されている症例は対象に含まれていない。

尿検体は，来院時に自然排尿中間尿を紙コップに採取した。検体を十分に攪拌した後，一部を NMP-22 用専用容器に分注し，さらに一部を従来法および cyto-rich 法による尿細胞診用と BTA 用の3本の遠沈用試験管に分注した。同日，膀胱鏡検査により膀胱腫瘍の有無を検索し，肉眼的に腫瘍または腫瘍が疑われる病変が認められた場合は手術により病理組織学的検索を行った。さらに，膀胱鏡検査時に生理的食塩水 50 ml による膀胱洗浄を行い，洗浄液細胞診を行った。

NMP-22 の測定には Matritech UNMP-22 test kit

Table 1. Relationship between BTA and NMP-22

	N	BTA		NMP-22*	
		Positive	Negative	Positive	Negative
Tumor-bearing	31	18	13	23	8
Tumor-free	40	1	39	13	27
Total	71	19	52	36	35

* cut-off value: 12 U/ml.

(コニカ, 東京) を用い, cut-off 値は 12 U/ml とした. BTA は, BTA stat test kit (Bard, NY, USA) を用い, 定性的に判定した. 細胞診は, 自然排尿検体および生理食塩水 50 ml による膀胱洗浄検体を用いた従来法と, 自然排尿検体を用いた細胞診自動塗沫染色装置 (Cyto-rich preparation system, Roche, NJ, USA) による cyto-rich 法を行った.

以上のパラメーターを用いて, 対象を腫瘍ありと腫瘍なしの 2 群に分けて検討した. NMP-22 については, 測定値の定量的検討と共に, cut-off 値 (12 U/ml) 以上を陽性, 未満を陰性とした定性的検討を加えた. 細胞診は, Papanicolaou 分類の class 1, 2, 3 を陰性とし, class 4, 5 を陽性とした. さらに, 各パラメーターに影響する因子について統計学的検定を行った.

統計学的解析は, 2 群間の検定には χ^2 検定および McNemar 検定を, predictive value の比較には Fisher test を用いた. 統計学的計算は, StatView (Version 5.0, SAS Institute, NC, USA) を用いて行い, 危険率 5% 以下を有意とした.

なお, NMP-22 の測定および cyto-rich 法による尿細胞診用標本作製は SRL に依頼した. NMP-22 および BTA 測定の費用は, 奈良県立奈良病院泌尿器科研究費により賄った.

結 果

初発および再発を併せて腫瘍が認められた 31 例のうち, 単発腫瘍は 13 例, 随伴上皮内癌を含めた多発腫瘍

は 18 例であった. 最大腫瘍径が 3 cm 以上の症例は 17 例で, 3 cm 以下は 14 例であった. 病理組織学的診断は全例移行上皮癌で, 腫瘍細胞の最大異型度は, grade 1 が 10 例, grade 2 が 15 例, grade 3 が 6 例であった.

NMP-22 の平均値 (±標準偏差) は, 腫瘍なしの群が 21.9 ± 7.8 U/ml であったのに対して, 腫瘍ありの群は 100.5 ± 26.5 U/ml であった ($p < 0.05$) (Fig. 1). NMP-22 の定性的検討では, 腫瘍あり 31 例中, NMP-22 陽性は 23 例 (74.2%) で, 腫瘍なし 40 例中 NMP-22 が陰性であったのは 27 例 (67.5%) であった. NMP-22 の positive predictive value は 63.9% で, negative predictive value は 77.1% であった (Table 1).

BTA は, 腫瘍あり 31 例中陽性を示したのは 18 例 (58.1%) であった. 腫瘍なし 40 例中陰性は 39 例 (97.5%) で, 偽陽性が 1 例 (2.5%) あった. BTA の positive predictive value は 94.7% で, negative predictive value は 75.0% であった (Table 1).

Cyto-rich 法による細胞診が陽性であったのは 71 例中 5 例 (7.0%) で, この 5 例では全例で腫瘍が認められた. 従来法 (自然排尿検体および洗浄液検体) による細胞診においても, 同一 5 例が陽性で, 今回の検討ではいずれの方法においても陽性例は一致した.

腫瘍あり 31 例において NMP-22 と BTA の相関を検討したところ, BTA 陽性例の NMP-22 値は 125.5 ± 120.5 U/ml, BTA 陰性例は 37.0 ± 83.9 U/ml で, BTA 陽性例の方が有意に高値を示した ($p = 0.03$)

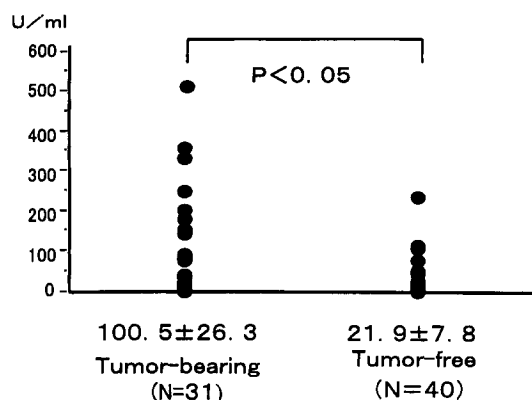


Fig. 1. Difference in NMP-22 levels between tumor-bearing and tumor-free patients.

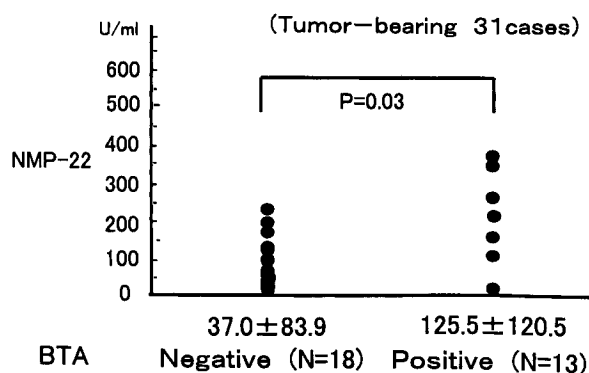


Fig. 2. Difference in NMP-22 levels between BTA-positive and BTA-negative patients.

Table 2. Factors influencing values of NMP-22

Factor.	p value
Sex	0.271
Age	0.368
Recurrent tumor	0.285
Prior therapy	0.729
Multiplicity*	0.555
Tumor size*	0.529
Tumor cell grade*	0.786
Urinary WBC	0.001
Urinary RBC	0.269

* in tumor-bearing 31 cases.

(Fig. 2). また, BTA と尿細胞診およびNMP-22 と尿細胞診について同様の検討を行ったが, いずれの組み合わせにおいても有意な相関は認められなかった.

各パラメーターに影響を与える因子すなわち, 初発・再発, 既治療, 尿沈渣中の赤血球数および白血球数により群別し, 群間の差を統計学的に検討した. さらに, 腫瘍ありの31例では, 多発性と直径3 cm を cut-off 値とした腫瘍径および腫瘍細胞異型度について同様の検討を行った. 腫瘍細胞異型度について同様の検討を行った. NMP-22 では, 尿沈渣における白血球数が1視野あたり10個を cut-off 値とした場合, 白血球の多い群と少ない群で有意な差 ($p=0.001$) が認められたが, 他の因子では有意な差は認められなかった (Table 2). BTA についても同様の検討を行ったが, いずれの因子にも差は認められなかった. 尿細胞診については陽性例が少なく, 検定不可能であった. また, 腫瘍径, 腫瘍異型度についても, 今回の検討では差は認められなかった.

考 察

膀胱癌の診断には膀胱鏡検査が必須である. しかし, 膀胱鏡検査は患者に与える苦痛が大きいことから, 非侵襲的検査法として flow cytometry による尿中剝離細胞の核 DNA 量測定⁹⁾や尿中 CEA 測定¹⁰⁾など様々な試みが行われてきたが, 検査費用や手技の煩雑さなどの理由で実用化されていない. 唯一補助的診断法として臨床の場で用いられている尿細胞診は, 特異性の高い非侵襲的検査ではあるが, 感度が低く, また, その診断精度がスクリーナーの熟練度に依存することから目的を十分に達しているとはいえない. 最近, 膀胱癌の尿中腫瘍マーカーとして NMP-22 と BTA がほぼ同時に実用化された. そこで今回, 膀胱癌症例において NMP-22 および BTA を同時に測定すると共に, 同一検体で尿細胞診を行い, これらの検査法の正診率について比較検討を行った.

NMP-22 は, 核マトリックス蛋白を抗原として作

成された2種類のモノクローナル抗体302-22と302-18によって認識される核蛋白質である³⁾ この核蛋白は尿路上皮癌に特異的ではないが, 尿路上皮癌では核内の核マトリックス蛋白が細胞死により可溶性となって尿中に放出されることから, 尿路上皮癌の腫瘍マーカーとなりうる.

BTA は, 膀胱腫瘍で形成される基底膜断片複合体により構成された分子量 18~165 kd の特異的ポリペプチドで膀胱癌患者の尿より分離された^{5,11)} 最近このポリペプチドを抗原とした簡易定性キットが実用化されたことから, 容易に測定可能な非侵襲的検査として期待されている.

さらに, 今回は細胞診の検体処理法として従来の方法と cyto-rich 法の2種類を行った. Cyto-rich preparation system による細胞診は, 婦人科領域では既に臨床応用されており, 従来法による細胞診に比較して染色性が良く, 重積の少ない標本が作成できることが報告されている^{7,8)} しかし, 今回の検討では尿細胞診の陽性率が低かったこともあり, 従来法と cyto-rich 法では差は認められなかった. 尿細胞診における cyto-rich 法の有用性については今後の検討が必要である.

今回の検討では, NMP-22 の感度と特異度はそれぞれ74.2, 67.5%で, BTA の感度と特異度はそれぞれ58.1, 97.5%であった. この結果は, 過去に報告されている NMP-22 の測定結果^{4,12)} (感度: 61.1~72.2%, 特異度: 66.6~70.3%) と比較して同等の結果であった. また, BTA についても過去の報告^{6,13)} (感度: 40.4~58.0%, 特異度: 86~92%) と同等の結果であった. このように, NMP-22, BTA のいずれもが, 尿細胞診よりも特異度, 感度とも有意に優れていたことは, 膀胱癌の腫瘍マーカーとして有用性が高いと考えられる. 両者の感度, 特異度を考慮すると, これらの検査を用いることにより, 治療後経過観察中の膀胱鏡検査の頻度を減らすことが可能になると考えられる.

NMP-22 の感度 (74.2%) は BTA の感度 (58.1%) より高く, 特異度は BTA (97.8%) の方が NMP-22 (67.5%) より高かったことから, NMP-22 は診断前スクリーニング検査に, また, BTA は治療後の経過観察に有用性が高いと考えられる. 一方, 今回の検討では NMP-22, BTA と尿細胞診を組み合わせても正診率は上昇しなかった. これは, 細胞診の感度が低かったこと, さらに, 細胞診で陽性であった症例の全例で NMP-22, BTA が陽性であったことが原因であると考えられる. しかし, 細胞診は感度が低いものの, 組織型や細胞異型度の検討が可能であることから, 細胞診と NMP-22 または BTA の組み合わせには意義があると考えられる.

NMP-22 を腫瘍マーカーとして用いる上での留意点は、本検査が尿中に流出した正常細胞成分を測定していることから、感染症や手術などの機械的刺激により細胞回転が上昇した場合でも高値を示すことが予測されることである。諸家の報告^{4, 12)}でも、尿路感染症がある場合、偽陽性率が高くなることが示されている。今回の検討では、活動性感染症と考えられる症例は除外したが、NMP-22 が偽陽性を示した症例が14例あった。内訳は、BCG 注入療法後が8例、動注化学療法併用放射線療法後が4例であった。いずれも尿沈渣の白血球数が1視野10個以上であった。一方、BTA の偽陽性は1例だけであった。この症例は、動注化学療法併用放射線療法により治療中の浸潤性膀胱癌症例で、TUR 生検により病理組織学的に完全寛解が確認されていたが、膀胱鏡検査では腫瘍部の高度の炎症性変化が認められた。このように、NMP-22 と BTA が偽陽性を示した症例の多くが BCG 注入療法や動注化学療法併用放射線療法を施行した症例であったが、これらの症例においては生検でも検出できない微小癌病変が存在する可能性が否定できない。この点については、今後の検討が必要である。

第2の問題点として、NMP-22 は尿中濃度であることから、その測定値は絶対的なものでなく尿量により変化することである。前述のごとく、NMP-22 は尿路上皮細胞から尿中に直接放出される蛋白を測定しており、糸球体濾過物質の測定と異なり補正の必要はないと考えられるが、食後など稀釈尿では低値となり、早朝尿などの濃縮尿では高値となることが予想され、特に基準値前後では判定が困難になる。この点に関しては、現在われわれは NMP-22 の日内変動を検討中であるが、検体採取に一定の条件が必要になると考えられる。これらの点も含めて、NMP-22 および BTA の有用性については、今後さらに検討が必要である。

結 語

今回の検討において、新しい膀胱癌の尿中マーカーである NMP-22 および BTA の有用性が示された。NMP-22 は診断前スクリーニングに優れているのに対して、BTA は治療後経過観察に優れていると考えられた。膀胱鏡検査にこれらの検査と尿細胞診を組み合わせることで、非侵襲的に膀胱癌の診断率が高まることが期待される。

本論文の要旨は、第49回日本泌尿器科学会中部総会、1999年11月、大阪において発表した。

文 献

- 1) Murphy WM : Current status of urinary cytology in the evaluation of bladder neoplasms. *Hum Pathol* **21** : 886-896, 1990
- 2) Trott PA and Edwards L : Comparison of bladder washings and urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *J Urol* **110** : 664-666, 1973
- 3) Soloway MS, Briggman JV, Carpinito GW, et al. : Use of a new tumor marker, urinary NMP-22, in the detection of occult or rapidly recurring transitional cell carcinoma of the urinary tract following surgical treatment. *J Urol* **156** : 363-367, 1996
- 4) Miyanaga N, Akaza H, Ishikawa S, et al. : Clinical evaluation of nuclear matrix protein 22 (NMP22) in urine as a novel marker for urothelial cancer. *Eur Urol* **31** : 163-168, 1997
- 5) Sarosdy MF, De Vere White RW, Soloway MS, et al. : Results of a multicenter trial using BTA test to monitor for and diagnose recurrent bladder cancer. *J Urol* **154** : 379-384, 1995
- 6) Miyanaga N, Akaza N, Ozono S, et al. : Significance of the BTA test in bladder cancer. a multicenter trial. *Int J Urol* **4** : 557-560, 1997
- 7) Howell LP, Davis RL, Belk TI, et al. : The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology. *Acta Cytol* **42** : 171-177, 1998
- 8) Wilbur DC, Facik MS, Rutkowski MA, et al. : Clinical trials of the CytoRich specimen-preparation device for cervical cytology. preliminary results. *Acta Cytol* **41** : 24-29, 1997
- 9) 橘 政昭, 実川正道, 田崎 寛, ほか : 膀胱癌診断における flow cytometric DNA histogram, 自然尿細胞診, 膀胱洗浄液細胞診の比較検討. *日泌尿会誌* **80** : 1025-1030, 1989
- 10) Fraser RA, Ravry MJ, Segura JW, et al. : Clinical evaluation of urinary and serum embryonic antigen in bladder cancer. *J Urol* **114** : 226-229, 1975
- 11) D'Hallewin MA and Baert L : Initial evaluation of the bladder tumor antigen test in superficial bladder cancer. *J Urol* **155** : 475-476, 1996
- 12) Stampfer DS, Carpinito GA, Rodriguez-Villanueva J, et al. : Evaluation of NMP22 in the detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* **159** : 394-398, 1998

(Received on August 24, 2000)
(Accepted on November 24, 2000)